テフコ株式会社 ：〒192-0361 東京都八王子市越野5-5 富沢ビル2F
TEL 0426-76-3513 FAX 0426-76-9150 ホームページ http://www.tef.co.jp

# Q – PAGE 取扱説明書

Mar 28. 2014 改訂

Q - PAGE System はリーディングイオンとして $SO_4$, トレーリングイオンとして BES, カウンターイオンとして Bis-Tris と Tris を使用した SDS-PAGE System です。 ゲルバッファーを中性（pH6.6）に調製することにより、一般的に使用されているアルカリ性（pH8.8）の SDS-PAGE よりもポリアクリルアミド担体の安定性が増し、使用期限が 4℃で 1 年と長期間の保存が可能です。分離がシャープで、しかも 37 分の短時間で泳動を完了できる優れた特徴を持っています。

参考文献：(1) J.Wiltfang,N. Arold and V. Neuhoff , Electrophoresis 1991,12, 352-366.

(2) Malcolm Moos, Jr., Nga Yen Nguyen, and Teh-Yung Liu. The Journal of Biological Chemistry. Vol.263, No.13, Issue of May 5,pp. 6005-6008, 1988

## 1. ゲルの仕様

担体　　ポリアクリルアミド

ゲル濃度

アイソクラティック　7.5 %, 10 %, 12.5 %, 13 %

グラジエント　5 – 12 %, 5 – 14 %, 10 – 16 %

ゲルバッファー　BisTris-$H_2SO_4$, pH 6.6

ゲルのサイズ　8 x 8 cm

ゲル厚　1.0 mm

カセットサイズ　10 x 10 cm

保存　冷蔵（ 4 ℃）, 凍結厳禁.

取扱い　ゲルを使用の際は保護手袋を着用してください。

ウエルの形状と最大サンプル添加量

0 well ： 250μl　　8 well ： 33μl

10 well ： 25μl　　12 well ： 15μl

15 well ： 10μl　　2-D well： 300μl

使用期限

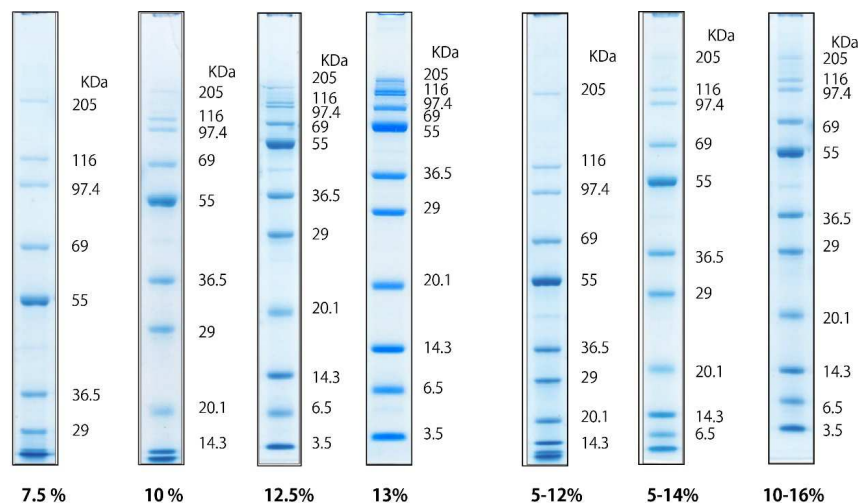
製造日から 1 年

その他

ゲルと一緒に梱包されているポリエチレン袋の液体は凍結防止用の NaCl 3% 溶液です。

## 2. 分画範囲

| ゲル濃度（%） | 分離可能な範囲（KDa） | 検量線が直線になる範囲（KDa） |
|---|---|---|
| 7.5 | 29 — 270 | 29 — 116 |
| 10 | 18 — 240 | 20.1 — 69 |
| 12.5 | 4 — 205 | 14.3 — 45 |
| 13 | 2.5 — 205 | 14.3 — 36.5 |
| 5 – 12 | 14.3 — 250 | 20.1 — 205 |
| 5 – 14 | 8 — 150 | 14.5 — 97.4 |
| 10 – 16 | 3.5 — 116 | 14.3 — 70 |

## 3. 分離パターン

## 4. 酸化防止剤

Ｑ-PAGE を還元条件で泳動する場合、ジチオスレイトール(DTT),または 2-メルカプトエタノールで還元処理して切断されたジスルフィド結合が泳動中に再酸化され、バンドがぼやけたりスメアーな結果となる場合があります。酸化防止剤を上部（陰極）バッファーに添加することによりこの現象を防止し、よりシャープに分離することができます。 酸化防止剤は Tris-BES バッファーキットに添付されています。

## 5. プロトコール

### 使用するバッファー

Cat.No. 06-381 Tris-BES バッファーキット（次の試薬が含まれています）

| | | |
|---|---|---|
| Cat.No. 06-383 | Tris-BES サンプルバッファー（2X),20ml，１本 | ４℃保存 |
| Cat.No. 06-384 | Tris-BES SDS 泳動バッファー(10X),500ml，１本 | 室温保存 |
| Cat.No. 06-385 | DTT 還元剤（10X）1ml | -20℃保存 |
| Cat.No. 06-387 | 酸化防止剤（400X ）10ml | 4℃保存 |

*注意：DTT 還元剤（10X）は冷蔵便で出荷されますが、到着後は冷凍（-20℃）で保存してください。

### 使用する電気泳動装置

Cat.No.03-101 セイフティーセルミニ STC-808

### プロトコール

1. 還元条件で泳動する場合は、1mlの Tris-BES サンプルバッファー(2X)、に対して0.2 mlのDTT還元剤(10X)を加えてから次の試料溶液を調製してください。 DTTの代わりに0.05 mlの2-メルカプトエタノールを使用することもできます。還元剤入りTris-BESサンプルバッファー(2X)は必ず使用時に新しく調製してください。

2. 試料と 還元剤入りTris- BES サンプルバッファー（２Ｘ）を（1：1）の割合で混合し、95℃で約5分間加熱します。処理後の試料溶液は長時間保存することを避け、冷却後直ちに試験を開始してください。

3. Tris-BES 泳動バッファー（ 10X ),80ｍｌに720ｍｌの蒸留水を加えて混合し,Tris-BES 泳動バッファー（1X）800ｍｌを調製します。 200ｍｌのTris-BES 泳動バッファー（1X）に0.5mlの酸化防止剤(400X)を加えて混合し、適量（ゲルカセットのウエル上端より3-4mm上の位置まで）を上部（陰極）バッファー槽に注入します。 酸化防止剤は泳動の直前に添加するようにしてください( 非還元条件で泳動する場合は酸化防止剤は添加しないでください)。残りのTris-BES 泳動バッファー（1X),約600 mlを下部（陽極）バッファー槽に注入します。 下部バッファーはゲルの温度が上昇するのを防ぐため、十分量を注入するようにしてください。

4. ウエルに試料溶液を添加します。 タンパク質の負荷量は1mm 10well のゲルを使用してクマシーブルー染色を行う場合、通常 1 バンド当たり 0.1 - 0.5μｇ がシャープに分離できる目安です。 １バンドの最大負荷量は約20 μｇです。

5. 下記の泳動条件に従って泳動を開始します。

| | | |
|---|---|---|
| **電　　流** | ： | 60 mA 定電流 / ゲル1枚 （120 mA 定電流 / ゲル2枚） |
| **予想 電圧** | ： | 開始時 160-220Ｖ |
| | | 終了時 250-290Ｖ |
| **泳動時間** | ： | 約 37 分 |

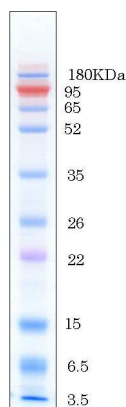
注意 １） 予想電圧は泳動バッファーの温度により変化します。上記は泳動開始時のバッファー温度が 18 – 23 ℃の場合の還元条件の電圧値です。

注意 ２） 非還元条件（酸化防止剤を使用しない）の場合は 45mA 定電流 / ゲル1枚（90 mA 定電流 / ゲル2枚)で泳動を開始してください。泳動バッファーに酸化防止剤が含まれていない場合、60mA で泳動すると電圧が高くなり過ぎるので注意してください。

6. ブロムフェノールブルー（BPB）がゲル下端付近まで移動したら電源を切り、泳動を終了します。 使用後の泳動バッファー（上部バッファーと下部バッファー）（１X）は捨てずに、混合して保存し、次回の下部（陽極）バッファー（1X）として再使用します（２回以上の再使用は避けてください）。 ただし、上部（陰極）バッファーは使用のつど新しく調製することが必要です。

7. 泳動終了後、ゲルをカセットから取り出し、必要に応じて、固定、染色、ブロッティング等の操作を行います。 Q-PAGE のブロッティングには一般的な Tris-Glycine 系の SDS-PAGE と同様のプロトコールを適用することができます。

## 着色済みマーカーを使用する場合の注意

SeeBlue Plus2 Pre-Stained Standard (Invitrogen)
Q-PAGE 12.5% / Tris-BES

着色マーカーはバッファー系の違いにより移動度が著しく変化することがあります。SeeBlue Plus2 Pre-Stained Standard（Invitrogen）を使用する場合、分子量は左記の補正値を適用してください。その他の着色マーカーの場合はタンパク質分子量マーカーII(テフコ)等を標準としてQ-PAGE で各バンドの分子量をあらかじめ補正しておく必要があります。

# 6. バッファー組成

| Tris-BES サンプルバッファー（1X） | |
|---|---|
| Tris-HCl,pH8.4 | 200mM |
| Glycerol | 12% |
| SDS | 2% |
| BPB | 0.005% |

| Tris-BES 泳動バッファー（1X） | |
|---|---|
| Tris base | 30mM |
| BES | 30mM |
| SDS | 0.1% |

| DTT 還元剤（1X） | |
|---|---|
| DTT(ジチオスレイトール) | 0.06M |

| 酸化防止剤（1X） | |
|---|---|
| Sodium Hydrogen Sulfite | 0.05 % |
| N,N-Dimethylformamide | 0.025 % |

注意 ： 酸化防止剤に添加剤、 N,N-Dimethylformamide は引火性、有害性物質です。取扱いには十分注意してください。


テフコ株式会社

〒192-0361 東京都八王子市越野 5-5
TEL： 042-676-3513
FAX： 042-676-9150